

リン酸エステル化合物の新規合成法の開発と応用研究

著者	椿 宏太
発行年	2021-03-25
学位授与番号	17104甲工第516号
URL	http://hdl.handle.net/10228/00008303

氏 名	椿 宏 太
学位の種類	博 士 (工学)
学位記番号	工博甲第 5 1 6 号
学位授与の日付	令和 3 年 3 月 2 5 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	リン酸エステル化合物の新規合成法の開発と応用研究
論文審査委員	主 査 准教授 岡 内 辰 夫 教 授 柘 植 顕 彦 " 北 村 充 准教授 加 藤 珠 樹

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

本学位論文において、非対称なリン酸トリエステルを簡便かつ効率良く合成するための新規反応開発と、新規反応を用いたリン酸エステル骨格を有する新たな医薬品候補化合物の合成と評価についての研究成果をまとめたものである。

第 1 章では、新規のリン酸トリエステルの合成法の開発とその応用について述べている。

第 1 章第 2 節では、非対称なリン酸トリエステルの新規合成法の開発について述べている。入手容易なリン酸トリス(トリフルオロエチル)に対して塩基として DBU, あるいは tBuOLi を用いると、異なる 3 つのアルコールとの間で、選択的にエステル交換反応を進行し、非対称なリン酸トリエステルが効率良く合成できる手法の開発に成功している。

第 1 章第 3 節では、リン脂質の新たな合成法の開発について述べている。非対称なリン酸トリエステルの合成法を用いて合成したリン酸ジアルキルトリフルオロエチルをリン酸エステル化試薬として用いることでホスファチジルエタノールアミンとホスファチジルコリンの新たな合成法の開発に成功している。

第 1 章第 4 節では、ジヌクレオチドの新たな合成法の開発について述べている。前節と同様に非対称なリン酸トリエステルを用いることで核酸の構造単位であるジヌクレオチドの新たな合成法の開発に成功している。

これらの研究を通じてリン酸トリス(トリフルオロエチル)を出発原料に用いた選択的なエステル交換反応による非対称なリン酸トリエステルの合成法により、リン酸トリエステルの従来の合成法の課題であった目的物の収率、用いる試薬の安定性、官能基の適応範囲の狭さを解決した。この合成法はリン酸トリエステルだけでなく、リン脂質やジヌクレオチドなどのリン酸ジエステル化合物の合成にも適応が可能である。

第 2 章では、非対称なリン酸トリエステルの合成法を用いたプラズマローゲンの類縁

体の合成について述べている。

第2章第2節では、プラズマローゲンの生合成前駆体であるステアシル基を有するアルキルアシルグリセロリン脂質の合成と生理活性評価について述べている。目的のステアシル基を有するアルキルアシルグリセロリン脂質を市販のグリセロール誘導体から全10工程でエタノールアミン型のアルキルアシルグリセロリン脂質の合成に成功した。その生理活性評価を行ったところ、プラズマローゲンと同様の神経細胞におけるアポトーシス抑制効果を示すことを明らかにしている。

第2章第3節では、硫黄原子を有するアルキルアシルグリセロリン脂質類縁体の合成と生理活性評価について述べている。硫黄原子を有する類縁体を全9工程で合成に成功した。活性評価の結果、神経細胞におけるアポトーシスの抑制効果、サイトカイン生成抑制による神経炎症の改善、学習・記憶機能の向上を確認することができている。

第2章第4節では、C-P結合を有するアルキルアシルグリセロリン脂質類縁体の合成について述べている。また、リン酸トリフルオロエチルエステルの選択的なエステル交換反応はリン酸エステルだけでなく、ホスホン酸エステルに対しても適用できることを明らかにしている。

第2章第5節では、シスアルケンの生物学的等価体であるシクロプロパン環を有する類縁体の合成について述べている。

第2章第6節では、プラズマローゲンが作用しているタンパク質の同定を目的として光親和性標識基としてジアジリン、検出用官能基としてアルキンを有する長鎖アルコールの合成と評価結果について述べている。

第3章では非対称なリン酸トリエステルの合成法を用いたトリエステル型のジヌクレオチドの合成と siRNA への化学修飾の応用研究について述べている。

第3章第2節ではフェネチルエステル型ジヌクレオチド誘導体の合成とリン酸トリエステルによって化学修飾を行った siRNA の合成と評価について述べている。ヌクレオシドとリン酸トリス(トリフルオロエチル)による選択的なエステル交換反応を行うことでフェネチルエステル型ジヌクレオチド誘導体を高収率で合成することに成功した。合成したジヌクレオチド誘導体を用いて化学修飾を行った siRNA を合成し、生理活性評価を行ったところ、トリエステル型を用いた siRNA は化学修飾を施していない siRNA と同様の標的タンパク質の生成阻害活性を示すこと、ヌクレアーゼに対する安定性が向上することを明らかにした。

第3章第3節では siRNA の膜透過性の向上を目指した長鎖のアルキル鎖を有するジヌクレオチド誘導体の合成について述べている。

第3章第4,5節では、これまでに報告されていた siRNA の化学修飾法を基にそれぞれ、キュバン誘導体の合成および、オルト位にフルオロ基、パラ位にアミド基を有するアゾベンゼンの合成について述べている。

学位論文審査の結果の要旨

当論文審査委員会は、椿宏太君より学位論文の提出を受け、各委員が個別にその内容について検討し、同君に内容について口頭で質問し、その内容が本学での博士（工学）の学位授与に相当する内容を持ち、かつ同君が十分な学力を有することを確認した。また、令和3年2月8日の公聴会にて口頭試問をすることで最終試験に合格と判断した。

同君は本博士後期課程において、「リン酸エステル化合物の新規合成法の開発と応用研究」のテーマで研究を行なった。リン酸エステルは医薬品や農薬、難燃剤、不斉有機触媒など様々な分野において用いられている有機化合物である。そのため、これまでも多くのリン酸エステルの化学合成法が報告されている。しかし、従来の化学合成法には目的物の収率、反応の再現性、用いる試薬の不安定さと言った課題が存在する。そこで、本論文ではリン酸エステルを簡便かつ効率良く合成するための新規反応開発と、開発した新規反応を用いたリン酸エステル骨格を有する新たな医薬品候補化合物の合成と、その生理活性評価について明らかにした。

今回、出発原料としてリン酸トリス（トリフルオロエチル）を用いて塩基性条件下で、異なる3つのアルコールと選択的にエステル交換反応を進行させることによる非対称なリン酸エステルの効率的な新規合成法を見出した。この合成法の利点は①出発原料が入手容易な点、②穏和な条件で反応が進行する点、③官能基適応範囲が広い点、④出発原料や合成中間体が水、熱、酸素に対して安定であるため、単離精製が可能である点が挙げられる。また、このリン酸トリエステルの合成法を用いることでリン脂質とDNAの構造単位であるジヌクレオチドの新たな合成法の開発にも成功し、当該研究分野への貢献が大きいと判断した。これらの研究成果は、日本化学会等の学会発表、**Organic Letters** 誌への論文掲載により客観的に高く評価されていると判断した。

次に、見出したリン酸エステルの合成法を活用して、プラズマローゲンの類縁体の合成と生理活性評価を行った。近年、プラズマローゲンはアルツハイマー病との深い関係性が明らかになってきており、アルツハイマー病の治療や予防の鍵となることで注目を集めている。しかし、プラズマローゲンは酸、熱、酸素に対して不安定である。また、体内におけるプラズマローゲンの作用機序は未だ解明されていないことが多いと言った課題が挙げられる。そこで本論文ではこれらの課題を解決する目的で8種類のプラズマローゲンの類縁体の合成と生理活性評価を行った。今回、市販のアルコールから効率良く酸性条件に対して安定なプラズマローゲンの類縁体を合成することに成功した。また、合成した類縁体の生理活性評価の結果、*in vitro* でプラズマローゲンと同様の生理活性を示すことが分かった。

さらに、オンタリオ工科大学の Prof. Desaulniers のグループとの共同研究も行った。siRNA は 20 塩基程度の短い 2 本鎖 RNA で相補的な塩基配列を有する mRNA を分解させることで標的タンパク質の生成を抑制する機能がある。この siRNA は次世代の医

薬品として活発に研究が行われている。一方で、siRNA には大きく 2 つの課題が存在する。1 つ目は細胞膜の透過性が低いことである。siRNA は細胞内で機能するため、細胞膜を通過する必要がある。しかし、分子量数千以上のポリアニオンである siRNA は細胞膜を通過できる割合が低いと考えられている。また、2 つ目の課題は安定性が低いことである。siRNA は容易に加水分解を受けやすく化学的に不安定である。さらに、生体内においては分解酵素であるヌクレアーゼによっても容易に分解されやすい。そこで、近年では siRNA を化学修飾することで、これら 2 つの課題を解決する研究が活発に行われている。この課題に対して、既に関連したリン酸エステルの新規合成法を応用し、トリエステル型ジヌクレオチド誘導体の合成を行った。次に合成したトリエステル型ジヌクレオチドを用いて siRNA の化学修飾を行い、siRNA の安定性と生理活性の評価を行った。その結果、化学修飾を施していない天然の siRNA と同様の活性を示しながら、分解酵素であるヌクレアーゼに対する安定性を向上させることを明らかにした。これらの研究成果は、ACS Medical Chemistry Letters 誌への論文掲載により客観的に高く評価されていると判断した。

また、公聴会における口頭試問に対しても、論理的に回答し、質問者を十分に納得させることができた。

以上により、論文調査及び最終試験の結果に基づき、審査委員会において慎重に審査した結果、本論文が、博士（工学）の学位に十分値するものであると判断した。